

Pedro Henrique Mastriani Vieira

**MORFOANATOMIA DO COLMO DE RAMOS JOVENS DO
BAMBU *Dendrocalamus asper* (POACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Programa de Graduação
em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a Obtenção do Grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Marisa Santos

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Vieira, Pedro Henrique Mastriani
Morfoanatomia do colmo de ramos jovens do bambu
Dendrocalamus asper (Poaceae) / Pedro Henrique Mastriani
Vieira ; orientadora, Marisa Santos - Florianópolis, SC,
2016.
54 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Histologia Vegetal. 3. Colmo
Bambu. I. Santos, Marisa. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Pedro Henrique Mastriani Vieira

**MORFOANATOMIA DO COLMO DE RAMOS JOVENS DO
BAMBU *Dendrocalamus asper* (POACEAE)**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciências Biológicas”, e aprovado em sua forma final pelo Programa de Graduação em Ciências Biológicas.

Florianópolis, 15 de Julho de 2016.

Prof.^a Maria Risoleta Freire Marques, Dr.^a
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Marisa Santos, Dr.^a
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Ana Cláudia Rodrigues, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Cristina Magalhães Ribas dos Santos, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Agradecimentos

Agradeço:

Ao CNPQ por viabilizar o projeto “Tecnologias para o Desenvolvimento Sustentável da Cadeia Produtiva do Bambu no Sul do Brasil”, cujo o referente trabalho insere-se, assim como ao coordenador do projeto Prof. Dr. Miguel Pedro Guerra.

À minha orientadora, Profa. Dra. Marisa Santos, pelas horas de discussões e ensinamentos que possibilitaram a realização deste trabalho.

Aos meus pais, que apoiam minhas decisões e deram o suporte financeiro para meu estabelecimento na universidade.

À Msc. Maiby Teodoro de Oliveira pelo repasse dos ensinamentos durante meu estabelecimento no laboratório.

À Msc. Ana Paula Lando, que colaborou dispondo de tempo para acompanhar-me durante as sessões de MEV.

Aos integrantes do LAVEG pela harmonia na rotina de trabalho.

Ao LCME que forneceu a estrutura e disponibilidade de horários para as análises de MEV.

Ao restaurante universitário (R.U.), que fornece as refeições diárias e energia necessária para uma vida acadêmica adequada.

Ao centro acadêmico da biologia (CABIO) e todos seus integrantes, que proporcionam os momentos de descontração fundamentais para realização de qualquer trabalho acadêmico.

E à Thais Peixoto Macedo, pelo suporte dado em alguns momentos deste trabalho.

RESUMO

Os bambus são membros da família Poaceae e possuem distribuição cosmopolita, desempenhando papéis ecológicos importantes em seus ecossistemas. No continente americano, o Brasil dispõe da maior diversidade de espécies. Características como o crescimento rápido e a relativa resistência do colmo, fazem dos bambus plantas muito versáteis e utilizadas milenarmente pelos povos tradicionais. *Dendrocalamus asper* é uma espécie asiática cultivada por apresentar colmos grandes e resistentes. Devido ao longo ciclo de vida das espécies e à rara produção de sementes, técnicas de micro e macropropagação vêm sendo desenvolvidas para prestar auxílio na produção de mudas. Entretanto, um conhecimento morfoanatômico básico acerca da planta deve ser melhor compreendido, no intuito de garantir uma adequação das técnicas de regeneração *in vitro*. Com isto, regiões do ramo jovem como os nós, entrenós, meristema apical, axilar e intercalar foram separadas e analisadas em microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura, a fim de possibilitar a descrição estrutural dos tecidos. A partir disto, obteve-se que os nós e entrenós possuem características histológicas distintas. Nos entrenós, as células apresentaram-se longas e os tecidos tiveram uma disposição definida, enquanto que nos nós, anastomoses do sistema vascular inteconectavam transversalmente o colmo, garantindo uma maior complexidade histológica. Além disto, verificou-se que o meristema intercalar deriva-se do apical, mantendo-se entremeado nos nós apicais e, basipetamente, desenvolvendo-se na crista supranodal. O alongamento do entrenó é provido pela crista supranodal, com as células dividindo-se e alongando-se no sentido basífugo. A deposição de parede secundária, assim como a lignificação das células, pode se dar precocemente, interrompendo o alongamento celular. As gemas axilares não têm origem no meristema apical, e foram encontradas em nós que continham células com grande quantidade de amido. Regiões basais com meristemas bem definidos, como o intercalar e o axilar, mostram características potenciais para a aplicação das técnicas de micropropagação.

Palavras-chave: Bambuseae. *Dendrocalamus asper*. Bambu exótico. Colmo. Histologia vegetal. Nós. Entrenós. Meristema intercalar. Gema apical. Gema axilar.

ABSTRACT

Bamboos are members of the Poaceae family and are distributed all over the world, developing an important ecological role in their ecosystems. In the American continent, Brazil features the major diversity of species. Characteristics such as the rapid growth and the stiffness of the culm make the bamboos very versatile plants and utilized by traditionally people for centuries. *Dendrocalamus asper* is an Asian specie cultivated for its big and resistant culm. Though, due the long life cycle of the species and the lack of seeds, techniques of micropropagation are in development in order to support the production of seedlings. However, the anatomical components of the plant must be known, to assure an adequation of the micropropagation techniques. In this context, regions of the young branch such as the nodes, internodes, apical, axillary and intercalary meristems were separated and analised in optical microscope and scanning electron microscope, in order to enable the description pf the structural tissues. From this, the nodes and internodes showed distinct histological features. In the internodes, the cells were axially elongated and the tissues had a more homogeneous configuration, while in the nodes, anastomoses of the vascular system were interconnecting transversely the culm, assuring a higher histological complexity. The intercalary meristem is originated in the apical meristem and keeps among the parenchymatic cells, while basipetally, it develops the supranodal ridge. The final step of the internode elongation is due the action of the supranodal ridge, wich its cells divides and elongates basifugally. The deposition of secondary wall, as well as lignification, occurs early in the culm development, ceasing the cellular elongation. The axillary buds didn't have its origin in the apical meristem, and were found in nodes rich in starch. Basal regions of the branch, with well defined meristems, such as the intercalary and the axillary, shows potential to the appliance of the micropropagation techniques.

Keywords: Bambuseae. *Dendrocalamus asper*. Exotic bamboo. Anatomy of the culm. Nodes. Internodes. Intercalary meristem. Apical bud. Axillary bud.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C. - Antes de Cristo

LAVEG - Laboratório de Anatomia Vegetal

LCME - Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura

M.I. - Meristema Intercalar

% - por cento

°C - graus Celsius

°GL - graus Gay Lussac

cm - centímetro

µm - micrômetro

mm - milímetro

nm - nanômetro

M -molar

SUMÁRIO

1-	INTRODUÇÃO.....	15
2-	OBJETIVOS.....	19
2.1-	Objetivos específicos.....	19
3-	MATERIAL E MÉTODOS	19
4-	RESULTADOS	21
5-	DISCUSSÃO.....	25
6-	CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
7-	REFERÊNCIAS.....	35
8-	APÊNDICE 1 – Figuras.....	41

1- INTRODUÇÃO

Poaceae é uma importante família pertencente à ordem Poales, tendo sua monofilia sustentada por caracteres morfológicos e de DNA (APG III 2009). Seus integrantes são usualmente conhecidos como gramíneas e constituem um grupo bem diversificado, com cerca de 11.000 espécies referidas na GPWG II (2012). Suas espécies possuem papel ecológico fundamental nos ambientes onde habitam e tem distribuição cosmopolita, ocorrendo em praticamente todos os tipos de ecossistemas (Judd *et al.* 2008).

As gramíneas, conforme Judd *et al.* (2008), estão intimamente ligadas com os primórdios da agricultura e da civilização humana. Os autores referem que as gramíneas são de grande importância econômica, constituindo uma das principais fontes de alimento do homem e dos animais de criação. Acrescentam que cerca de 70% das terras cultivadas do planeta estão cobertas de gramíneas como trigo (*Triticum aestivum* Linnaeus), cevada (*Hordeum vulgare* Linnaeus), aveia (*Avena sativa* Linnaeus), arroz (*Oryza sativa* Linnaeus), milho (*Zea mays* Linnaeus) e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* Linnaeus).

A família Poaceae é dividida em 12 subfamílias: Anomochlooideae, Pharoideae, Puelioideae, Bambusoideae, Ehrhartoideae, Pooideae, Aristidoideae, Arundinoideae, Danthonioideae, Centothecoideae, Panicoideae e Chloridoideae (GPWG 2001). Bambusoideae, cujos integrantes são mais conhecidos por bambus ou taquaras, possui 1.439 espécies descritas, distribuídas em 116 gêneros (BPG 2012). Estudos filogenéticos, realizados pelo BPG (2012), propõem a divisão da subfamília em três tribos: Arundinarieae, bambus lenhosos de regiões temperadas (28 gêneros com 533 espécies); Bambuseae, bambus lenhosos de regiões tropicais (67 gêneros com 784 espécies); e Olyreae, bambus herbáceos (21 gêneros com 122 espécies).

Com exceção da Europa e da Antártida, segundo Ohrnberger (1999), os bambus estão naturalmente presente em todos os outros continentes. A maioria das espécies habita regiões tropicais e subtropicais do planeta, tendo maior diversidade no Leste e Sudeste Asiático e na América do Sul e Central. Embora sejam mais abundantes em regiões tropicais, os bambus lenhosos ocupam áreas que se estendem nas zonas temperadas dos dois hemisférios, onde na América do Sul chegam a atingir a latitude sul de 47° (região Andina do Chile e Argentina) e no leste da Ásia a latitude norte de 46° (Ilha de Sakhalin, Rússia). Além disso, acrescenta o autor, bambus lenhosos podem ser

encontrados desde o nível do mar até altitudes de 4.500m, enquanto que os bambus herbáceos estão limitados aos trópicos e não ultrapassam altitudes de 1.700m

No continente americano existem cerca de 356 espécies de Bambusoideae distribuídas em 38 gêneros. O Brasil é o país que registra a maior diversidade do novo mundo, contribuindo com 34 gêneros (89%) e 232 espécies (65%), considerando que destas, 174 espécies e 9 gêneros são endêmicos (Filgueiras & Santos-Gonçalves 2004). A maior diversidade de bambus do país é encontrada na Floresta Atlântica, onde ocorre 65% do total de espécies brasileiras, tendo os estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Bahia e Paraná como os mais representativos (Londoño 2001). Trantando-se dos bambus lenhosos, McClure & Smith (1967) referem que no estado de Santa Catarina existem cerca de 34 espécies nativas.

Além das espécies nativas, muitas exóticas são cultivadas para diversas finalidades. Londoño (2001) considera dois gêneros exóticos de bambus lenhosos como de maior importância no Brasil, *Bambusa* Schreb. e *Dendrocalamus* Nees. *Dendrocalamus* inclui 88 espécies, dentre elas *Dendrocalamus asper* (Schult. & Schult. F.) Backer ex K. Heyne. Esta espécie é originária do sudeste asiático, sendo conhecida no Brasil por bambu balde ou bambu gigante e foi provavelmente introduzida no país pelos colonizadores portugueses (Tombolato *et al.* 2012). *Dendrocalamus asper* é uma espécie de bambu lenhoso que forma touceiras de grande porte, podendo chegar até 30 metros de altura e mais de 30 cm de diâmetro na base dos colmos e, segundo Tombolato *et al.* (2012), consiste no bambu de maior porte encontrado no Brasil.

Os bambus lenhosos são plantas muito versáteis, pois são resistentes e apresentam crescimento rápido. Seus colmos ocos servem de abrigo para pequenos invertebrados e suas folhas e sementes são um recurso abundante de alimento para a fauna (Bystriakova 2004). Estas características fazem deles um componente estrutural importante em seus ecossistemas, onde também atuam evitando a erosão, neutralizando solos ácidos e produzindo grande quantidade de biomassa (INBAR 1999).

Utilizados para as mais diversas finalidades, o registro mais antigo do uso de bambu pelo homem é de 5.000 anos a.C. na China (Yang & Hui 2010). Já foram designados mais de 1.500 tipos de usos (INBAR 1999), dentre eles destaca-se a construção, a fabricação de diversos produtos, o uso ornamental e a alimentação. Muitas espécies são comestíveis e contêm valor nutricional variado. O broto jovem é a

parte comestível da planta e possui quantidades significativas de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, além de ser rico em compostos bioativos como fitoesteróis e fenois (Nirmala *et al.* 2011). Ao redor do mundo, o comércio e as atividades relacionadas ao uso do bambu atingem cerca de 2,5 bilhões de pessoas, tendo um valor comercial estimado em US\$ 4,5 bilhões por ano (INBAR 1999). *Dendrocalamus asper*, por possuir colmos grandes e resistentes, é frequentemente utilizado como material de construção e na produção de diversos utensílios, podendo ainda ter seus brotos consumidos como alimento (Ohrnberger 1999).

No Brasil, em 2011, foi sancionada a lei nº 12.484, que institui a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu (PNMCB), que tem por objetivo o desenvolvimento da cultura do bambu por meio de ações governamentais e de empreendimentos privados, incentivando a pesquisa, o cultivo e o comércio dos produtos, subprodutos e serviços ambientais do bambu (Brasil 2011).

Com os bambus tornando-se cada vez mais importantes para as economias locais e globais, alguns fatores ainda têm potencial de limitar a produção, como o ciclo de vida longo de muitas espécies e a floração ser um evento raro. Ramanayake (2006) refere que como a fase vegetativa pode se estender até 120 anos, os cultivos ainda estão restritos à reprodução vegetativa, o que nem sempre é viável para algumas espécies. O autor ainda considera que os estímulos que levam uma espécie a entrar no ciclo reprodutivo ainda não estão totalmente compreendidos, pois já foram considerados inúmeros fatores, porém todos mostraram-se inconclusivos.

Tendo em vista que devido à falta de sementes, as produções agrícolas limitam-se basicamente à reprodução vegetativa, técnicas de micro e macropropagação laboratoriais vêm sendo desenvolvidas, a fim de prestar auxílio com a produção massal de mudas. Entretanto, o conhecimento básico de morfoanatomia do colmo deve ser melhor compreendido, no intuito de aprimorar as técnicas e definir qual a região mais adequada para os procedimentos de propagação.

Metcalfe em 1960 publicou o livro “Anatomia das Monocotiledôneas”, fazendo uma síntese dos trabalhos da época com morfoanatomia de monocotiledôneas. No que diz respeito a Bambusoideae, as descrições anatômicas feitas pelo autor são com ênfase taxonômica, consistindo de descrição da estrutura básica dos colmos e das folhas. Em secções transversais do colmo, a epiderme é unisseriada e composta por células de paredes espessadas com lúmen reduzido. As

camadas celulares adjacentes à epiderme constituem a hipoderme, que vai se esclerificando conforme à idade do colmo, tornando-se semelhante às células epidérmicas. Liese (1998) refere que, no colmo dos bambus, há dois tipos básicos de células parequimáticas, células alongadas no sentido do eixo e células curtas de formato cúbico, podendo haver variações dentre esses tipos. Os bambus seguem o padrão atactostelo das monocotiledôneas, com feixes vasculares dispersos aleatoriamente entre as células do parênquima (Rudall 1992). Os feixes vasculares são colaterais e os localizados mais periféricamente são de menor calibre, aumentando gradativamente o tamanho em direção ao centro (Metcalf 1960). Além disto, acrescenta o autor, os feixes vasculares são circundados por fibras, que aumentam em quantidade no sentido basípeto do colmo.

Essencialmente, os colmos são caracterizados por possuírem regiões bem delimitadas de nós e entrenós. Liese (1998) difere anatomicamente estas duas regiões, onde nos entrenós, as células são orientadas axialmente e a região central do colmo é oca, denominada de medula fistulosa, enquanto que as regiões de nó são totalmente preenchidas pelo diafragma, estrutura que providencia interconexões transversais do colmo.

Além do meristema apical e axilar, Evert (2006) cita outro tipo de meristema presente nas monocotiledôneas, principalmente em gramíneas, trata-se do meristema intercalar. Segundo Evert (2006), o meristema intercalar é encontrado na base dos entrenós e é derivado do meristema apical. Este tecido mantém sua atividade a certa distância do ápice e é responsável pelo alongamento dos entrenós. Fisher & French (1976) definem o meristema intercalar como um tecido meristemático isolado, delimitado acima e abaixo por tecidos já diferenciados. Os autores ainda acrescentam que regiões bem definidas de meristema intercalar só ocorrem nos estágios finais de desenvolvimento do entrenó. Daquinta *et al.* (2007) realizaram estudos de propagação com regiões de meristema intercalar, e no caso, os resultados mostraram-se promissores, indicando ser uma região do colmo com potencial para a aplicação das técnicas.

Diante disto, e devido ao grande potencial de aplicação de *Dendrocalamus asper*, os estudos morfoanatômicos e de propagação *in vitro* vêm de encontro com o crescente interesse acerca da planta, e podem auxiliar as cadeias produtivas mais sustentáveis de cultivo.

2- OBJETIVOS

Identificar componentes morfoanatômicos do colmo de ramos jovens de *Dendrocalamus asper*, como os tipos celulares e de tecidos, no intuito de definir regiões com potencial para a micro e macropropagação.

2.1- Objetivos específicos:

- ✓ Descrever a morfoanatomia dos ramos jovens.
- ✓ Analisar e descrever os tecidos meristemáticos (apicais, intercalares e de gemas axilares).
- ✓ Analisar aspectos citológicos e histológicos em nível ultraestrutural.
- ✓ Comparar os aspectos histológicos dos primeiros nós e entrenós (sentido ápice-base).

3- MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foram analisados segmentos nodais dos ramos jovens da espécie exótica *Dendrocalamus asper*, com ênfase na região apical e nos nós e entrenós do colmo. A coleta do material foi feita a partir de um exemplar da espécie (Figura 1), localizado no município de Florianópolis, no campus da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (27° 36' 06,32" S; 48° 31' 28,18" O).

Define-se por ramo jovem, o ramo lateral que estava inserido no nó do colmo principal da planta. O colmo principal tem origem no rizoma (subterrâneo) e o ramo é uma gema axilar que se desenvolveu nos nós do colmo principal. *D. asper* é uma espécie de bambu que pode apresentar muitos ramos em um único nó.

Foram considerados os segmentos nodais (regiões do colmo que abrangem o nó e partes superior e inferior do entrenó) do ramo jovem, no sentido basípeto, incluindo os mais apicais protegidos por bainha foliar e os quatro primeiros subsequentes destituídos de bainha foliar. Os ramos utilizados para este estudo apresentaram no máximo 12 nós e a separação dos segmentos nodais (Figuras 2A, B e C), foi feita de pelo menos cinco ramos jovens do indivíduo. As amostras ficaram com aproximadamente meio centímetro de comprimento.

O comprimento dos entrenós foi medido a partir de 10 ramos jovens, para a elaboração de um gráfico com as médias aritméticas e

desvio padrão. O teste estatístico utilizado para avaliar se houve diferença significativa entre as médias foi o teste *t*.

As amostras foram seccionadas à mão-livre, com auxílio de lâmina de barbear, para confecção de lâminas temporárias, que serviram para observações *in vivo*.

A fim de detectar a natureza química dos componentes estruturais e possíveis conteúdos nas células do colmo, foram utilizados os seguintes testes histoquímicos: lugol, para amido (Johansen 1940) e sudan III, para identificar substâncias lipofílicas, como cutina, ceras epicuticulares e óleos (Costa 1982).

Para as secções em micrótomo, as amostras foram fixadas a vácuo em glutaraldeído 2,5% em solução tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, lavadas no mesmo tampão (Ruzin 1999) e colocadas em etilenodiamina 10% (Carlquist 1982) de três a cinco semanas para diminuir a rigidez do material, passado o período, as amostras foram lavadas em água destilada e desidratadas em série etílica, permanecendo conservadas em etanol 70°GL.

Para a formação dos blocos de historresina, as amostras conservadas em etanol 70°GL foram desidratadas em série até etanol 96°GL, para depois serem colocadas em vácuo na solução de pré-infiltração (hidroximetacrilato diluído em etanol 96°GL) *overnight* (duas ou mais horas), e em seguida sendo infiltradas em hidroximetacrilato (Leica Historresin, Heidelberg, Alemanha) em vácuo por três horas ou mais, conforme Gerrits & Smid (1983). As amostras foram posicionadas em moldes de plástico contendo a solução de infiltração e uma substância endurecedora (dimetil sulfóxido), que em seguida permaneceram secando em temperatura ambiente por cerca de uma semana. Após este período de solidificação dos blocos, as amostras foram retiradas dos moldes e coladas em blocos de madeira, sendo estes, armazenados em recipientes de vidro contendo sílica.

Os blocos de historresina foram seccionados transversalmente e longitudinalmente com 5 µm de espessura em micrótomo de rotação Leica RM 2125 RT (Nussloch, Alemanha) e distendidos sobre lâminas contendo água em chapa aquecedora (42° C). As secções foram coradas com azul de toluidina em tampão fosfato 0,2M a pH 6,8 (O'Brien *et al.* 1964) para caracterização histológica e também para identificar a presença de lignina. As análises foram feitas em microscópio óptico DM 2500 (Leica, Wetzlar, Alemanha), equipado com câmera digital Opticam OPT 5.1MP e software OPTHD (New Songdo City, Coreia do Sul). As fotos macroscópicas dos segmentos nodais foram feitas em

microscópio estereoscópico Leica EZ4D (Wetzlar, Alemanha), equipado com câmera DFC 295 (Heerbrugg, Alemanha).

Os segmentos nodais também foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC.

Para MEV, as amostras fixadas como descrito acima e conservadas em etanol 70^oGL foram desidratadas até etanol 100^oGL e submetidas à secagem em ponto crítico de CO₂ EM-CDP-030 (Leica, Heidelberg, Alemanha), segundo Horridge & Tamm (1969). Depois de secas, as amostras foram montadas em suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face e recobertas por uma camada de 30nm de ouro paládio em metalizador EM SCD 500 (Leica, Viena, Áustria). As imagens foram capturadas em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol XL30 (Tokio, Japão).

4- RESULTADOS

O ramo tem sua origem como uma gema axilar, localizada no nó do colmo principal da planta. O desenvolvimento desta gema resulta na formação do ramo, que é estruturado por um colmo com nós e entrenós, cujas bainhas foliares e lâminas foliares estão inseridas.

Tendo como referência o sentido ápice-base do ramo jovem, os segmentos nodais apicais encontraram-se envoltos pela bainha foliar, enquanto que os segmentos seguintes por vezes estavam destituídos desta.

Cada segmento nodal apresentou-se constituído pelo nó e pelos entrenós subsequentes, acima e abaixo. Macroscopicamente, o nó pode ser facilmente detectado devido à presença da crista nodal, cicatriz resultante da região onde antes inseria-se a bainha foliar (Figura 2D). Internamente, o nó encontrava-se totalmente preenchido pelo diafragma, estrutura que separa longitudinalmente os entrenós ocos dos ramos. Além da crista nodal, foi constatada outra estrutura macroscópica, a crista supranodal (Figura 2E), uma protuberância na base do entrenó, que apresentava-se mais visível com o desenvolvimento dos segmentos mais basais.

Seccionando longitudinalmente o ápice do ramo foi encontrada a gema apical (Figura 3A). Verificou-se as características do domo, constituído pela túnica (protoderme) e pelo corpo (promeristema) (Figura 3B). A túnica apresentou-se como uma camada unisseriada de células e o corpo, era constituído por células meristemáticas

isodiamétricas sem plano de orientação definido. O domo estava totalmente envolto pelos primórdios foliares (Figura 3C), que prolongaram-se em direção à extremidade mais apical do ramo, protegidos externamente por bainha foliar já desenvolvida. Abaixo do domo apical, o corpo da gema deu origem ao meristema fundamental (Figura 3D), células isodiamétricas ainda indiferenciadas de parede delgada, e ao procâmbio (Figura 3E), grupo de células indiferenciadas estreitas e alongadas axialmente. A diferenciação celular se deu no sentido basípeto (Figura 3F), com a protoderme originando a epiderme, o procâmbio os feixes vasculares e o meristema fundamental diferenciou-se em parênquima fundamental e hipoderme.

Seguindo o sentido basípeto da gema apical, verificou-se um aglomerado de células meristemáticas na base do primeiro entrenó (Figura 4A). Estas células de orientação axial, núcleo grande e paredes delgadas demonstraram que trata-se do meristema intercalar (Figura 4B), principal responsável pelo alongamento dos entrenós. Na base dos entrenós subsequentes, a presença do meristema intercalar não esteve muito evidente. Entretanto, em todos os segmentos nodais analisados, foram encontrados grupos isolados de células meristemáticas (Figura 4C). Estes grupos isolados de células, no sentido basípeto, determinaram a formação da crista supranodal.

A crista supranodal apresentou-se como uma protuberância do colmo localizada na base dos entrenós, desenvolvendo-se nos segmentos mais basais do ramo. Em secção transversal, a epiderme mostrou-se com paredes espessadas e lignificadas, a hipoderme plurisseriada era composta por células de paredes espessas e lignificadas semelhantes às epidérmicas (Figura 5A) e por células parenquimáticas não lignificadas. As células meristemáticas, que compunham o meristema intercalar, encontravam-se perifericamente de modo descontínuo ao longo da hipoderme (Figura 5B). Em uma mesma secção, verificou-se que estas células variavam quanto à sua localização na periferia, podendo encontrar-se diretamente abaixo da epiderme (Figura 5C), entremeada com a hipoderme esclerificada (Figura 5D), ou mais internamente abaixo da hipoderme (Figura 5E). Estas células dividiam-se peri e anticlinalmente, eram caracterizadas por serem de tamanho pequeno, paredes delgadas e núcleos conspícuos. Secções longitudinais possibilitaram evidenciar que estas células alongaram-se axialmente no sentido basífugo (Figura 5F).

Fibras circundavam os feixes vasculares da crista supranodal (Figura 6A), acumulando-se em grande quantidade no entorno do

xilema. Estas fibras eram curtas e não mostraram reação positiva à lignina (Figura 6B), pois as paredes não mostraram cor esverdeada com uso do azul de toluidina. A medula, em secção longitudinal, mostrou-se composta por células de paredes delgadas e curtas axialmente (Figura 6C), que por sua vez, alongavam-se no sentido basífugo. Durante o processamento das amostras, foi muito frequente a ruptura dos tecidos da crista supranodal (Figura 6D).

Os entrenós, quando já apresentavam crista supranodal desenvolvida, mostraram-se mais longos do que os com ausência desta (Figura 7). O teste *t* foi utilizado para avaliar se a diferença entre as médias era significativa.

O entrenó, em secção transversal (Figura 8A), mostrou a epiderme unisseriada, com células de paredes espessadas, lúmen reduzido e revestida por cutícula (Figura 8B). Com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura, foi possível observar a superfície do segmento nodal e o formato das células epidérmicas. A epiderme era composta por células longas com paredes sinuosas e células curtas silicosas, além disto verificou-se estômatos, papilas e tricomas aglandulares pontiagudos na superfície do segmento nodal (Figura 8C).

Adjacente à epiderme, ainda no entrenó, ocorreram sucessivas camadas de células isodiamétricas esclerificadas (Figura 9A), constituindo a hipoderme. Feixes vasculares de pequeno calibre (Figura 9B) se intercalaram ao longo da hipoderme, sendo estes, circundados por fibras. Internamente à hipoderme, uma extensa região composta por parênquima fundamental estava preenchendo as áreas entre os feixes vasculares (Figura 9C). Dois tipos celulares compunham este parênquima (Figura 9D), células regulares alongadas axialmente, intercaladas por algumas células curtas, ambas continham espaços intercelulares esquizógenos.

Os feixes vasculares eram do tipo colateral e estavam distribuídos aleatoriamente em toda a circunferência do colmo, seguindo o padrão atactostelo (Figuras 10A e B). Estes feixes mais internos mostraram-se de maior calibre que os feixes periféricos (Figura 10C). Os feixes estavam envolvidos por fibras, as quais, circundavam totalmente o feixe (Figura 10D). As fibras nos entrenós eram longas (Figura 10E), de paredes espessas, lignificadas e lúmen reduzido. A região medular dos entrenós apresentou evidências de progressiva morte celular, resultando em porção central fistulosa. À medida em que há a aproximação do nó, as células parenquimáticas na medula mantiveram-se intactas,

constituindo um diafragma que conferia um bloqueio transversal interno intermediando os entrenós.

Na região nodal (Figura 11A), a epiderme seguiu esclerificada, enquanto que a hipoderme, em nós basais, pode ser encontrada lignificada e nos apicais não (Figuras 11B e C). A organização dos tecidos mais internos não seguiu um padrão definido como nos entrenós. As células parenquimáticas entre os feixes vasculares eram pequenas, de formato isodiamétrico, facetadas (Figura 11D) e continham amido (Figura 11E), principalmente em nós mais basais. Aglomerados de células meristemáticas foram frequentemente encontrados próximos à inserção da bainha foliar (Figura 11F), e ocasionalmente dispersas pelo tecido parenquimático. Estas células indicaram ser resquícios do meristema intercalar.

Nos nós, os feixes vasculares sofreram ramificações (Figuras 12A e B), onde os dois elementos de metaxilema seguiram orientações distintas, um manteve a direção longitudinal e o outro seguiu perpendicularmente (Figura 12C), constituindo as anastomoses do diafragma. Algumas destas anastomoses intercruzavam inclusive a região medular (Figura 12D). Além disto, a presença de traços foliares, acompanhados de células parenquimáticas pequenas, também contribuiu para a complexidade histológica do nó. Os traços foliares, quando vistos em secção transversal do colmo, exibiram configuração histológica distinta dos demais feixes vasculares, por mostrarem-se seccionados obliquamente (Figura 12E). O parênquima constituinte da medula era caracterizado por ter células grandes de paredes delgadas e com espaços intercelulares esquizógenos mais evidentes do que os observados nos entrenós (Figura 12F).

Nos feixes vasculares dos nós, encontraram-se fibras curtas, em pouca quantidade e somente junto ao floema (Figura 13A). Os elementos de vaso do xilema, na sua maioria, possuíam espessamento do tipo anelar ou espiralado (Figura 13B), entretanto, em segmentos nodais basais também foi possível verificar a presença de espessamento pontoado (Figura 13C). Nas regiões de transição dos nós com os entrenós, as células do parênquima fundamental alongaram-se axialmente (Figura 13D), enquanto que as ramificações dos feixes passaram a ser menos intensas e as fibras passaram a circundar todo o feixe vascular.

A presença de gemas axilares foi constatada, sobretudo nos nós mais basais. Inserida abaixo da crista supranodal (Figura 14A), verificou-se que era constituída por uma massa de células

meristemáticas, domo e primórdios foliares, protegida externamente por bainha foliar. A diferenciação celular se deu no sentido basípeto da gema, ou seja, próxima ao nó. Nesta circunstância, a gema causou um direcionamento por parte dos feixes vasculares em sua direção (Figuras 14B e C). Grãos de amido foram encontrados em grande quantidade no parênquima fundamental dos nós onde havia gemas axilares (Figura 14D).

O segmento nodal mais basal providenciava a conexão do ramo com o colmo principal da planta. Este segmento era composto por vários nós compactados e com entrenós não desenvolvidos (Figura 14E). Por ser apenas composto por nós, as características histológicas assemelharam-se às regiões nodais, contendo grande quantidade de fibras e de anastomoses do sistema vascular (Figura 14F). O parênquima fundamental apresentou células curtas que armazenavam amido. Gemas axilares por vezes estavam presentes nestes segmentos, assim como a crista supranodal.

5- DISCUSSÃO

O meristema apical é o responsável pelo desenvolvimento de todas as estruturas aéreas do ramo. A diferenciação se dá no sentido basípeto, do ápice para a base caulinar, com as células do meristema fundamental originando o parênquima fundamental. Gritsch & Murphy (2005) definiram quatro estágios para o desenvolvimento das células parenquimáticas, onde no primeiro, as células do meristema fundamental se dividem e diferenciam em parênquima; no segundo, as células parenquimáticas continuam dividindo-se; no terceiro estágio, estas células passam a alongar-se e, no quarto estágio, as células passam por maturação e deposição de parede secundária. Estes mecanismos ocorrem próximos ao ápice e são responsáveis pelo alongamento parcial do entrenó. As divisões periclinais das células parenquimáticas contribuem para a formação esquizógena dos espaços intercelulares. Gritsch & Murphy (2005) concluíram que a deposição de parede secundária se dá simultaneamente com o alongamento celular, sendo esta, a principal causa da interrupção do alongamento. Os autores também verificaram que a lignificação das células ocorre após o alongamento celular ter cessado.

Nas eudicotiledôneas, o comprimento final do entrenó é determinado apenas pela ação do meristema apical. Entretanto, nos entrenós das gramíneas, além do desenvolvimento parcial ocorrer sob

influência do meristema apical, o processo de alongamento continua a certa distância do ápice, pela ação do meristema intercalar (Evert 2006). O meristema intercalar (M.I.) é um tecido meristemático isolado, localizado na base do entrenó, limite superior do nó, e está delimitado acima e abaixo por tecidos já diferenciados (Fisher & French 1976).

No presente estudo, o M.I. esteve evidente apenas no primeiro segmento nodal, onde foi responsável pelo alongamento parcial do entrenó, e nos segmentos basais onde havia crista supranodal desenvolvida. No entanto, grupos de células meristemáticas isoladas foram encontrados em todos os nós. Evans & Perez (2004) referem que, nas gramíneas, o M.I. não está limitado à uma zona específica, as células proliferativas podem ser encontradas de maneira difusa na região nodal. Fisher & French (1976) consideram o M.I. como residual, sendo derivado do meristema apical e mantendo-se na base dos entrenós subsequentes. Portanto, estes agrupamentos isolados observados nos nós são do M.I., que permanecem ao longo do ramo e nos nós mais basais, desenvolvem-se na crista supranodal. Fisher & French (1976) ainda acrescentam que regiões bem definidas de M.I. ocorrem somente nos estágios finais de desenvolvimento do entrenó. Ou seja, nos segmentos nodais apicais, onde não havia mais evidências de M.I., os entrenós haviam alongado-se parcialmente, enquanto que os segmentos basais, com crista supranodal, estavam em processo posterior de alongamento. Isto é ratificado pelo gráfico que compara o comprimento dos entrenós, com presença e ausência de crista supranodal (Figura 7).

Com o desenvolvimento da crista supranodal, a partir de células meristemáticas localizadas no nó, o entrenó passa por uma segunda etapa de alongamento, independente do meristema apical. Pode-se verificar um gradiente no comprimento das células no sentido basífugo. Este gradiente foi encontrado nas células da medula e da periferia do colmo. Evans (1969) considera que as células que constituem a medula cessam o alongamento antes das células periféricas. O autor acrescenta que com o contínuo alongamento da periferia, as células medulares não suportam a tensão e acabam colapsando. Esta é uma das propostas que contribuem para a manutenção do caráter fistuloso da medula. Entretanto, muitos nós não apresentaram M.I., e com isto, a medula tornou-se fistulosa devido à lise celular (Lybeer *et al.* 2006). O rompimento da crista supranodal foi observado durante a preparação de algumas lâminas, ressaltando a fragilidade deste tecido.

Fournier & Andrieu (2000) definiram quatro fases para o desenvolvimento total dos entrenós. A fase I é exponencial,

correspondendo à multiplicação celular no meristema apical; a fase II é o estabelecimento do M.I. na base dos entrenós; a fase III refere-se à produção estacionária de células maduras (alongamento e maturação), e a fase IV trata da regressão do M.I. Com base nestas informações, podemos aferir que para os ramos jovens de *D. asper*, a fase II ocorre duas vezes, primeiramente, no desenvolvimento parcial do entrenó próximo ao meristema apical e, posteriormente, com o estabelecimento da crista supranodal em segmentos mais basais. Uma vez estabelecida a fase II, inicia-se a fase III, em que o entrenó alonga-se, até o M.I. começar a regredir (fase IV).

Secções transversais mostraram que o M.I. apresentava-se de forma descontínua na periferia da crista supranodal. Esta descontinuidade é devido à fase IV mencionada por Fournier & Andrieu (2000), referente à regressão do M.I. Com o término do alongamento do entrenó, o M.I. regride, apresentando-se de forma descontínua na periferia. Apesar da regressão do tecido meristemático, a crista supranodal ainda encontra-se desenvolvida, e as células recém diferenciadas ainda podem sofrer alongamento.

As fibras que acompanhavam os feixes vasculares da crista supranodal, estavam em grande quantidade no entorno do xilema e, mostraram-se não-lignificadas e curtas. Pode-se verificar claramente a transição entre as fibras não-lignificadas da crista e as lignificadas do nó, havendo contato direto umas com as outras. Secções transversais mostraram feixes de fibras com ambos os tipos, sugerindo uma deposição gradual de lignina. André (1998) verificou gradientes de diferenciação no espessamento dos elementos de metaxilema, quando estes cruzavam a base do entrenó. O autor refere que no momento em que o metaxilema atravessa a base do entrenó, o espessamento regride e, passada esta região, retorna ao espessamento original. André (1998) conclui que o meristema intercalar continua formando e alongando os feixes vasculares na base do entrenó. Portanto, as fibras que acompanham os feixes devem seguir esta mesma lógica. Como mostraram-se curtas e não-lignificadas, trata-se do M.I. ainda contribuindo para o alongamento e maturação celular.

Gemas axilares foram encontradas somente em segmentos nodais onde havia crista supranodal. O parênquima destes nós apresentaram grande quantidade de amido. Como a quantidade de açúcar não pode exceder um certo nível, a produção adicional é armazenada na forma de amido (Liese 1998). Em plantas como a batata, a quebra da dormência das gemas se dá com a transformação do amido em açúcar (Salisbury &

Ross 1992). A demanda energética das gemas axilares é suprida pelo tecido parenquimático adjacente, rico em amido. Nota-se que os feixes vasculares se ramificam na direção do meristema axilar, transportando a energia necessária para seu desenvolvimento.

Quanto à origem das gemas axilares, não foi observado o desenvolvimento destas no meristema apical. Portanto, como estavam presentes exclusivamente em segmentos com crista supranodal, uma relação ontogenética deve ocorrer entre o M.I. e as gemas axilares, considerando que o M.I. é o único tecido meristemático presente nos segmentos basais do ramo.

Das & Pal (2005), utilizaram meristemas axilares como fonte de tecido para micropropagação. Os autores referiram que meristemas mais organizados, como os axilares, proporcionam uma maior resistência às variações genéticas que podem ocorrer durante os procedimentos *in vitro*. Portanto, eles concluíram que dentre os diferentes métodos de propagação, a multiplicação de meristemas axilares é a mais confiável, pois apresentaram baixo risco de instabilidade genética. Entretanto, a grande quantidade de amido no parênquima adjacente à gema axilar deve ser mencionada, pois pode favorecer o estabelecimento de contaminantes.

Nos entrenós, os tecidos estavam distribuídos de forma homogênea, com o parênquima fundamental correspondendo à maior área. Dois tipos de células parênquimáticas compõem os entrenós. Células alongadas axialmente predominavam e estavam intercaladas por células pequenas, ambas possuíam espaços intercelulares esquizógenos, e podem lignificar-se precocemente no ramo. Liese (1998) refere que, quando ocorrem lesões no colmo, as células do parênquima respondem espessando as paredes. O autor acrescenta que amido e carboidratos solúveis são consumidos em resposta à lesões. Apesar de haver amido no parênquima do entrenó, a maior concentração é encontrada nas regiões de nó.

Os feixes vasculares estavam dispostos seguindo o padrão atactostelo. Fibras lignificadas estavam em maior quantidade na periferia do colmo e circundavam todo o entorno dos feixes vasculares. Liese (1998) considera que o comprimento das fibras é correlacionado com o diâmetro das mesmas e, nos entrenós, são mais longas do que nos nós, atingindo o comprimento máximo na porção mediana do entrenó. Embora não tenha sido realizado a medição do comprimento das fibras, visualmente pode-se aferir que *D. asper* segue este padrão descrito pelo autor. Liese (1998) ainda acrescenta que como as fibras podem

permanecer vivas por longos períodos de tempo, elas podem armazenar amido, que providencia a energia necessária para o alongamento celular e para espessamentos adicionais de parede.

A medula torna-se fistulosa devido à lise das células parenquimáticas que a compõem (Lybeer *et al.* 2006). Os requícios de parede celular destas células que sofreram lise, estavam evidentes na periferia da medula de *D. asper*. Estas células sofrem algum tipo de sinalização que induz a morte celular. Drew *et al.* (2000) verificaram que a morte celular programada em raízes de milho, levando à formação de aerênquima, se deu em áreas específicas do córtex. Os autores observaram que a lise foi regulada pelo etileno e que, após a morte celular, enzimas degradaram o conteúdo citoplasmático, deixando resquícios de paredes celulares. Para *D. asper*, é possível que o processo que determina o caráter fistuloso da medula não seja isolado. Apesar da literatura acerca do tema ser escassa, evidências sugerem que tanto a morte celular programada, quanto o contínuo alongamento do parênquima periférico à medula, estão atuando concomitantemente e contribuindo para a formação da medula fistulosa.

Os nós bloqueiam transversalmente os compartimentos ocos dos entrenós. Esta estrutura transversal, internamente, é denominada de diafragma. Shao *et al.* (2010) consideram os nós cruciais para a biomecânica da planta, garantindo rigidez e estabilidade. Entretanto, Taylor *et al.* (2015) estudaram a função mecânica dos nós e concluíram que, apesar de serem uma estrutura que garante maior resistência ao colmo, o nó também pode ser um ponto de fragilidade. Os autores notaram que o nó torna-se mais susceptível às rupturas quando submetido à forças externas. Porém, os autores fizeram testes em laboratório, no intuito de analisar o potencial do colmo para construção e, dificilmente no ambiente natural, o colmo sofreria forças semelhantes às testadas. Quando utilizados para a construção, bambus lenhosos como *D. asper*, devem ser secados apropriadamente para evitar o comprometimento estrutural do material. Segundo Taylor *et al.* (2015), quando secos, os bambus apresentam propriedades mecânicas distintas do que quando vivos, devido à desidratação. No entanto, a secagem adequada garante que não haja a proliferação de fungos e organismos que podem deteriorar a estrutura do colmo. O diafragma é composto por um tecido parênquimático de células grandes, de parede delgada e com espaços intercelulares. Estes espaços intercelulares eram mais conspícuos quando comparados aos do parênquima intervacular, os quais contribuem para um fluxo interno de ar entre o entrenó superior e

inferior. Lybeer *et al.* (2006) verificaram que células grandes e de paredes delgadas correspondem a uma menor densidade celular no diafragma. Os autores relacionam isto com a função mecânica dos nós, que armazenam energia elástica, e fazem com que o colmo retorne a posição original após uma força ter sido exercida. Eles concluem que uma alta densidade de células de paredes espessas tornariam o diafragma muito rígido e incapaz de realizar este papel. Como o presente estudo priorizou a análise dos ramos jovens, estes não apresentaram células esclerificadas no diafragma. Entretanto, se extrapolarmos a estrutura vista no ramo para o colmo adulto, que pode chegar a 30 cm de diâmetro, certamente haveria presença de esclerênquima.

Além da função mecânica, o diafragma realiza o transporte cruzado de água e nutrientes no colmo, devido à falta de células de condução radial nos entrenós (Liese 1998). A organização cruzada do sistema vascular nos nós é definida por anastomose vascular (Lybeer *et al.* 2006). André (1998) estudou a fundo as anastomoses da região nodal. O autor refere que muitos dos feixes vasculares atravessam diretamente o nó, porém, quando ocorre uma ramificação, esta se dá dicotomicamente e o feixe fica constituído por apenas um elemento de metaxilema. A posição do xilema e do floema podem mudar devido às torções durante as ramificações (Liese 1998). Os elementos de vaso do xilema, nos bambus, contém pouca quantidade de lignina, contrastando com a maioria das eudicotiledôneas e outras monocotiledôneas (Lybeer *et al.* 2006). A presença de fibras foi verificada apenas ao redor do floema, em pouca quantidade. Isto deve-se à tendência dos feixes intercruzarem-se na porção mais interna do nó, pois se houvessem fibras internamente, comprometeriam a capacidade dos feixes de mudar de orientação.

Ademais, a presença de traços foliares também contribui para a complexidade histológica da região nodal. Os traços foliares vascularizam a bainha foliar e a lâmina foliar, que por sua vez estão inseridas no nó. Devido à senescência, os segmentos nodais basais tendem a perder a bainha foliar. Liese & Weiner (1996) citam que em colmos mais senis ocorre a formação de tilose nos elementos de vaso e deposição de calose nos elementos de tubo crivado, bloqueando o transporte de água e nutrientes que, quando depositadas nos traços foliares, são responsáveis pela abscisão da bainha.

Liese (1998) observou que as fibras nos nós são mais curtas, porém elas são maiores em diâmetro do que nos entrenós. Como visto

por Taylor *et al.* (2015), os nós podem ser considerados um ponto de fragilidade no colmo. Liese (1998) conclui que devido ao encurtamento das fibras na região nodal e, o aumento na espessura das paredes, os colmos dos bambus sob pressão frequentemente partem-se nos nós, corroborando com as observações feitas por Taylor *et al.* (2015). A crista supranodal também mostrou-se uma região susceptível ao rompimento, devido à fragilidade do tecido.

O formato e tamanho das células parenquimáticas presentes no nó diferem consideravelmente dos entrenós (Liese 1998). As células deste parênquima fundamental mostraram-se pequenas, facetadas e quando estavam dispostas no entorno dos feixes vasculares, eram ainda menores. Segundo Lybeer *et al.* (2006), células parenquimáticas esclerificadas podem ser encontradas aleatoriamente no nó. Nas regiões de transição com os entrenós, observou-se um gradiente no tamanho das células do parênquima. As células aumentaram em tamanho, tanto transversalmente quanto longitudinalmente, e dividiram-se apenas no sentido anticlinal. O alongamento celular cessa após o início da deposição de parede secundária. Amido e outras substâncias estavam presentes em maior quantidade na região nodal.

Comparando os segmentos apicais com os basais, ocorre um aumento no diâmetro do colmo. Este aumento é devido, principalmente, ao incremento de novas células parenquimáticas, feixes vasculares e fibras. No entanto, o crescimento secundário em monocotiledôneas difere das eudicotiledôneas, pois não há formação de câmbio vascular típico e nem de felogênio (Jura-Morawiec *et al.* 2015). O aporte de novas células se dá de maneira descontínua, intermediado pelo meristema de espessamento secundário (Rudall 1992). Porém, este meristema não pode ser evidenciado ao longo do ramo. Como houveram evidências de células do M.I. isoladas nos nós, elas podem estar relacionadas com o acréscimo de novas células. Entretanto, a falta de conhecimento básico acerca deste tema faz com que, os mecanismos envolvidos no meristema de espessamento secundário ainda não sejam muito bem compreendidos (Jura-Morawiec *et al.* 2015).

Basipetamente, a hipoderme nas regiões de nó apresentou-se mais extensa, não necessariamente mais esclerificada. Lybeer *et al.* (2006) referem que a epiderme e hipoderme, dos nós protegidos por bainha, mostraram-se menos lignificadas do que nos nós com ausência de bainha. Isto deve-se ao fato de que a bainha foliar tem a função de proteger o colmo ainda em desenvolvimento. Uma hipoderme

esclerificada também contribui para uma menor perda de água do colmo, função que a bainha foliar exerce apicalmente.

Alvin & Murphy (1988) relataram que ocorre um aumento progressivo na espessura da parede das células parenquimáticas e das fibras durante o envelhecimento do colmo. Um aumento na quantidade de fibras nos feixes vasculares basípetos foi observado, principalmente na periferia do colmo de *D. asper*. Entretanto, Lybeer *et al.* (2006) enfatizam que, na região do diafragma, não há diferença significativa na quantidade de lignina das fibras e das células parenquimáticas, quando compara-se segmentos basais e apicais. Esta ausência de diferença, garante que a função mecânica do diafragma seja cumprida. O espessamento das paredes e a lignificação destas são eventos distintos, como já ressaltado por Gritsch & Murphy (2005), que a lignificação é um processo que ocorre posteriormente à deposição de parede secundária. Ou seja, pode-se observar um aumento na espessura das paredes das células basipetamente, mas não necessariamente elas estarão mais lignificadas.

A principal diferença entre os segmentos nodais apicais e basais foi o aumento no comprimento dos entrenós. Próximo ao meristema apical, os entrenós desenvolveram-se parcialmente por ação do M.I., que mantém-se nos nós subsequentes sem promover alongamento, e basipetamente, a partir de divisões periclinais, desenvolveu a protuberância em que consiste a crista supranodal. As divisões anticlinais do meristema intercalar da crista, no sentido basífugo, e o alongamento celular das células parenquimáticas, acarretaram no maior comprimento dos segmentos basais.

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos ramos jovens, a disposição dos tecidos seguiu um padrão definido nos entrenós, enquanto que nas regiões de nós, os tecidos apresentaram-se mais heterogêneos, devido à presença das anastomoses vasculares e dos traços foliares.

O meristema intercalar derivou-se do meristema apical, mantendo-se entremeado com as células parenquimáticas dos nós subsequentes e, desenvolvendo nos segmentos nodais mais basais, a crista supranodal.

Nos segmentos em que há crista supranodal, os entrenós mostraram-se mais longos, devido à ação do meristema intercalar. O meristema intercalar localizava-se na periferia da crista, adjacente à hipoderme, e a diferenciação e maturação celular se deu no sentido basífugo. Após o alongamento, o meristema regride tornando-se descontínuo.

Gemas axilares foram encontradas somente nos nós em que havia crista supranodal. Uma relação ontogenética pode ocorrer entre ambas, já que não foi verificada a formação de gemas axilares durante o desenvolvimento do meristema apical.

Basipetamente, os ramos sofreram adição de novas células parenquimáticas, feixes vasculares e fibras. Como não foi observado a presença do meristema de espessamento secundário, as células do meristema intercalar podem ter alguma relação com a incorporação destas novas células.

Quanto à micropropagação, os segmentos nodais basais com crista supranodal desenvolvida e gema axilar seriam a melhor região para explante. consideraram que regiões com meristemas já desenvolvidos, como os axilares, sofrem menos com as variações genéticas.

7- REFERÊNCIAS

- ANDRÉ, J.P. A study of the vascular organization of bamboos (Poaceae-Bambuseae) using a microcasting method. **IAWA Journal**, v. 19, n. , p. 265-278, 1998.
- ALVIN, K.L.; MURPHY, R.J. Variation in fibre and parenchyma wall thickness in culms of the bamboo *Sinobambusa tootsik*. **IAWA Journal**, v. 9, p. 353-361, 1988.
- APG III (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and the families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-121, 2009.
- BPG (Bamboo Phylogeny Group). An updated tribal and subtribal classification of the bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **Bamboo Science and Culture: The Journal of the American Bamboo Society**, v. 24, p. 1-10, 2012.
- BOZZOLA, J.J.; RUSSEL, L.D. **Electron microscopy**. Boston: Jones and Bartlett Publishers. 1991.
- Brasil. Lei n. 12.484, de 8 de setembro de 2011. Institui a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu (PNMCB). Brasília, DF, 11 set. 2011. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2011/lei/l12484.htm>. Acesso em: 11 jun. 2016.
- BYSTRIAKOVA, N.; KAPOV, V.; LYSENKO, I. **Bamboo biodiversity. Africa, Madagascar and the Americas**. U.K.: UNEP-WCMC/INBAR, 2004.
- CARLQUIST, S. The use of ethylenediamine in softening hard plant structures for paraffin sectioning. **Stain Tech**, v. 57, p. 311–317, 1982.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia Vol.III**. Farmacognosia Experimental. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.

DAQUINTA, M.; GREGORI, A.; CID, M.; LEZCANO, Y.; SAGARRA, F. 2007. Formación de callos e inducción de brotes a partir de tejido intercalar de ramas de plantas adultas de *Guadua angustifolia* Kunth. **Biotecnología Vegetal**, v. 7, p. 119-122, 2007.

DAS, M.; PAL, A. Clonal propagation and production of genetically uniform regenerants from axillary meristems of adult bamboo. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 14, p. 185-188, 2005.

DREW, M.C.; HE, C.J.; MORGAN, P.W. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 123-127. 2000.

EVANS, L.S.; PEREZ, R.K. Diversity of cell lengths in intercalary meristem regions of grasses: location of the proliferative cell population. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 115-122, 2004.

EVANS, P.S. Intercalary growth in the aerial shoot of *Eleocharis acuta*. **New Zealand Journal of Botany**, v. 7, p. 36-42, 1969.

EVERT, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function and development**. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons.

FILGUEIRAS, T.S.; SANTOS-GONÇALVES, A.P. A checklist of the basal grasses and bamboos in Brazil (POACEAE). **The Journal of the American Bamboo Society**, v. 18, p. 7-18, 2004.

FISHER, J.B.; FRENCH, J.C. The occurrence of intercalary and uninterrupted meristems in the internodes of tropical monocotyledons. **American Journal of Botany**, v. 63, p. 510-525, 1976.

FOURNIER, C.; ANDRIEU, B. Dynamics of the elongation of internodes in maize (*Zea mays* L.): analysis of phases of elongation and their relationships to phytomer development. **Annals of Botany**, v. 86, p. 551-563, 2000.

GERRITS, P.O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, p. 81-85, 1983.

GPWG (Grass Phylogeny Working Group). Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 88, p. 373-430, 2001.

GPWG II (Grass Phylogeny Working Group). New grass phylogeny resolves deep evolutionary relationships and discovers C4 origins. **New Phytologist**, v. 193, p. 304-312, 2012.

GRITSCH, C.S.; MURPHY, R.J. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper*. **Annals of Botany**, v. 95, p. 619-629, 2005.

HORRIDGE, G.A.; TAMM, S.L. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science**, v. 163, p. 817-818, 1969.

INBAR (International Network for Bamboo and Rattan). Socio-economic issues and constraints in the bamboo and rattan sectors: INBAR's assessment. **INBAR Working Paper**, v. 23, p. 1-28, 1999.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Co., 1940.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A., STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Plant systematic: A phylogenetic approach**. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc. Publishers, 2008.

JURA-MORAWIEC, J.; TULIK, M.; IQBAL, M. Lateral meristems responsible for secondary growth of the monocotyledons: A survey of the state of the art. **The Botanical Review** **81**, p. 150-161, 2015.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997.

LIESE, W. The anatomy of bamboo culms. **INBAR Technical Report**, v. 18, p. 1-204, 1998.

LIESE, W.; WEINER, G. Ageing of bamboo culms. A review. **Wood Science and Technology**, v. 30, p. 77-89, 1996.

LONDOÑO, X. Evaluation of bamboo resources in Latin America. **INBAR Working Paper**, v. 35, p. 1-30, 2001.

LYBEER, B.; KOCH, G.; ACKER, J.V.; GOETGHEBEUR, P. Lignification and cell wall thickening in nodes of *Phyllostachys viridiglaucescens* and *Phyllostachys nigra*. **Annals of Botany**, v. 97, p. 529-539, 2006.

MCCLURE, F.A.; SMITH, L.B. Gramíneas – Suplemento Bambúseas. *In*: Reitz, R. (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1967.

METCALFE, C.R. **Anatomy of the monocotyledons. I. Gramineae**. Oxford University Press, London, U.K. 1960.

NIRMALA, C.; MADHO, S.B.; SHEENA, H. Nutritional properties of bamboo shoots: potentials and prospects for utilization as health food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 153-169, 2011.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OHRNBERGER, D. **The bamboos of the world: annotated nomenclature and literature of the species and the higher and lower taxa**. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1999.

RAMANAYAKE, S.M.S.D. Flowering in bamboo: An enigma! **Ceylon Journal Science (Biological Science)**, v. 35, p. 95-105, 2006.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain for electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 17, p. 208-212, 1963.

RUDALL, P. **Anatomy of flowering plants. An introduction to structure and development**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.

RUZIN, S.E. **Plant microtechnique and microscopy**. New York: Oxford University Press, 1999.

SALISBURY, F.B.; ROSS C.W. **Plant physiology**. 4. ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992.

SHAO, Z.P.; ZHOU, L.; LIU, Y.M.; WU, Z.M.; ARNAUD, C. Differences in structure and strength between internode and node sections of moso bamboo. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 22, p. 133-138, 2010.

SPURR, A.R. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 26, p. 31-43, 1969.

TAYLOR, D.; KINANE, B.; SWEENEY, C.; SWEETNAM, D.; O'REILLY, P.; DUAN, K. The biomechanics of bamboo: investigating the role of the nodes. **Wood Science and Technology**, v. 49, p. 345-357, 2015.

TOMBOLATO, A.F.C.; GRECO, T.M.; PINTO, M.M. Dez espécies de bambus exóticos mais comuns no paisagismo no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 18, p. 105-114, 2012.

YANG, Y.; HUI, C. China's bamboo: Culture/ Resources/ Cultivation/ Utilization. **INBAR Technical Report**, v. 33, p. 1-227, 2010.

8- APÊNDICE 1 – Figuras



Figura 1: A-B: Exemplar de *Dendrocalamus asper* utilizado para o estudo. Localizado no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina, campus da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). C: Ramo jovem de *D. asper*. D: Ramo jovem removidas as bainhas foliares. Barras: C e D – 5 cm.



Figura 2: Separação dos segmentos nodais dos ramos jovens de *Dendrocalamus asper*. **A-B:** Segmentos nodais. Da esquerda para a direita, 1° ao 8° segmento. **C:** Segmentos nodais sem bainha foliar. Da esquerda para a direita, 9° ao 12° segmento. **D:** Seta indicando a crista nodal. **E:** Seta indicando a crista supranodal. Barras: **A-E:** 2,5 mm.

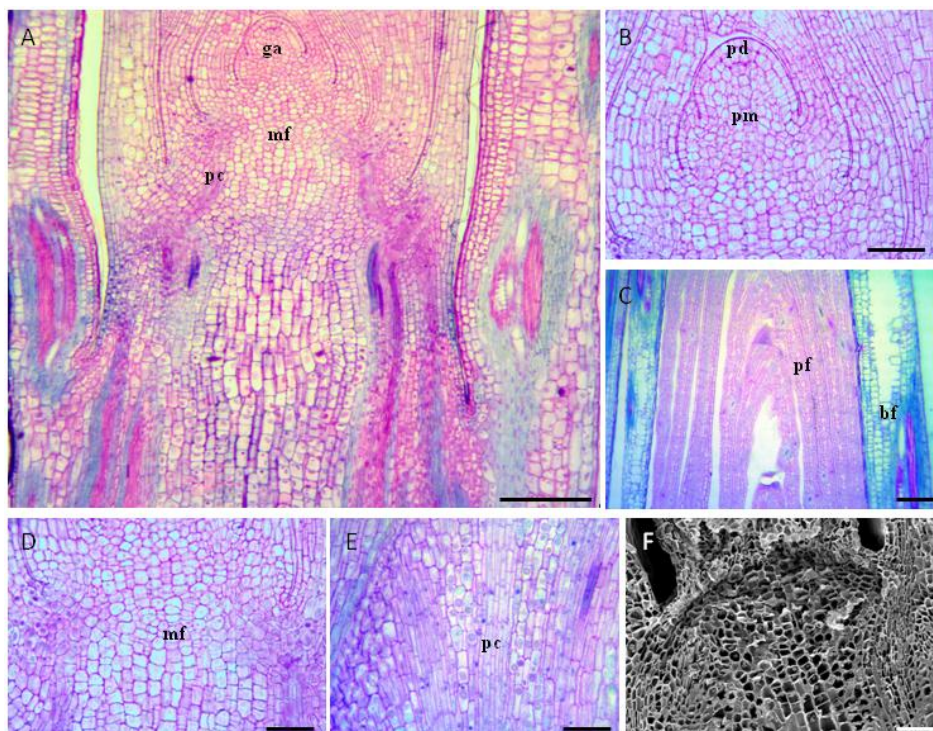


Figura 3: Secções longitudinais do 1º segmento nodal do ramo de *Dendrocalamus asper*. **A-E:** Secções analisadas em microscopia óptica, coradas com azul de toluidina. **A:** Aspecto geral do segmento com a gema apical e primeiros nós e entrenós do colmo e primórdios foliares. **B:** Detalhe dos tecidos meristemáticos apicais. **C:** Detalhe dos primórdios foliares que envolvem a região apical do ramo. **D:** Detalhe das células do meristema fundamental. **E:** Início de formação dos tecidos próvasculares. **F:** Secção longitudinal analisada em microscopia eletrônica de varredura. Diferenciação basípeta. Legenda: bf – bainha foliar; ga – gema axilar; mf – meristema fundamental; pc – procâmbio; pd – protoderme; pm – promeristema. Barras: A, C- 150 µm; B, D, E e F- 50 µm.

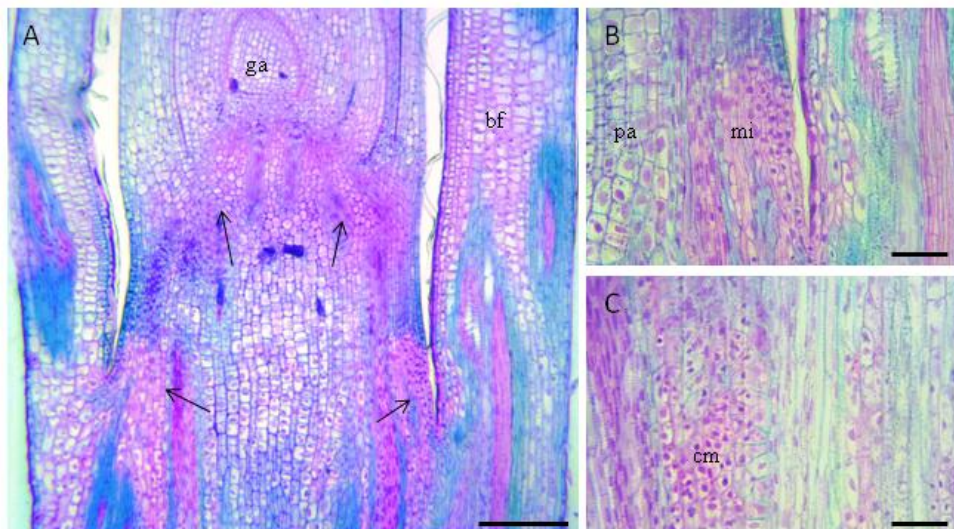


Figura 4: Secções longitudinais do colmo do ramo jovem de *Dendrocalamus asper*, coradas com azul de toluidina. **A:** Aspecto geral da região apical. Setas indicando o meristema intercalar, localizado na base de entrenós/inserção da bainha foliar. **B:** Detalhe da região de origem do meristema intercalar no primeiro segmento nodal (base do entrenó). **C:** Células meristemáticas residuais encontradas na região do 3º nó. Legenda: bf – bainha foliar; cm – células meristemáticas; ga – gema apical; mi – meristema intercalar; pa – parênquima. Barras: **A**- 150 µm; **B** e **C**- 50 µm.

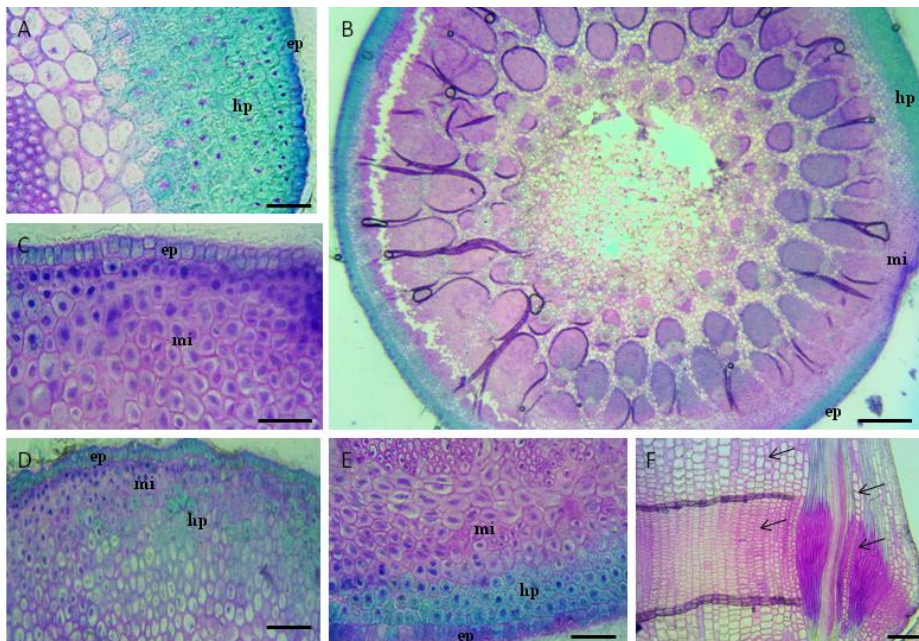


Figura 5: Secções transversais (A-E) e longitudinal (F) da crista supranodal do colmo de *Dendrocalamus asper*, coradas com azul de toluidina. **A:** Região sem a presença de meristema intercalar, apenas hipoderme e epiderme. **B:** Panorama geral da crista supranodal. **C-E:** Regiões periféricas com variação na localização do meristema intercalar, periféricamente descontínuo, abaixo da epiderme (C), entremeado com a hipoderme (D) e após a hipoderme (E). **F:** Detalhe dos tecidos com evidências de alongamento celular no sentido basífugo (setas). Legenda: ep – epiderme; hp – hipoderme; mi – meristema intercalar. Barras: A, C e E- 50 μm ; B- 250 μm ; D- 100 μm ; F- 150 μm .

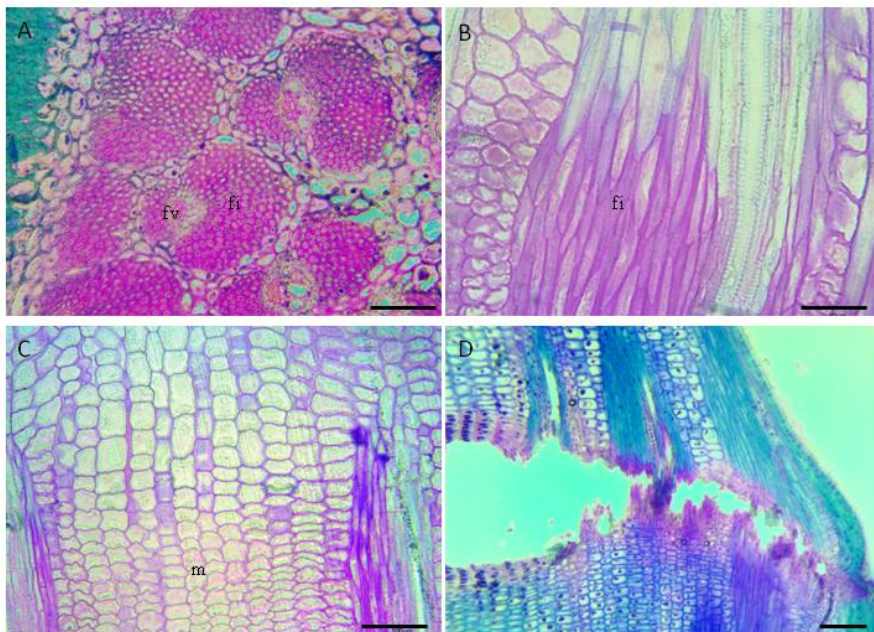


Figura 6: Secções transversais (A) e longitudinais (B-D) da crista supranodal do colmo de *Dendrocalamus asper*, coradas com azul de toluidina. **A:** Secção mostrando feixes vasculares com grande quantidade de fibras no entorno do feixe vascular, predominando junto ao xilema. **B:** Fibras curtas e não lignificadas (reação positiva ao azul de toluidina teria paredes celulares esverdeadas). **C:** Células da medula alongadas no sentido basífugo. **D:** Artefato decorrente da ruptura do tecido (meristema intercalar) da crista supranodal. Legenda: fi – fibras; fv – feixe vascular; m – medula. Barras: A e C- 100 µm; B- 50 µm; D- 150 µm.

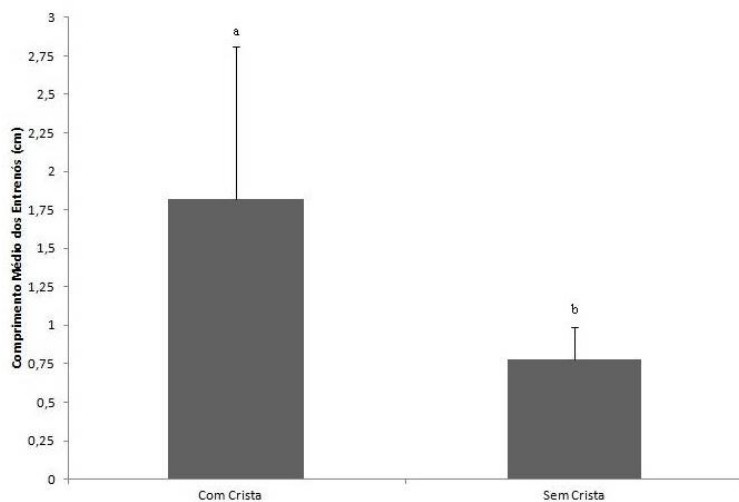


Figura 7: Comprimento médio dos entrenós, com e sem crista supranodal. a= 1,816 cm ; b= 0,778 cm. Teste *t* de student $p = 2,452^{-8}$. Barras = Desvio Padrão.

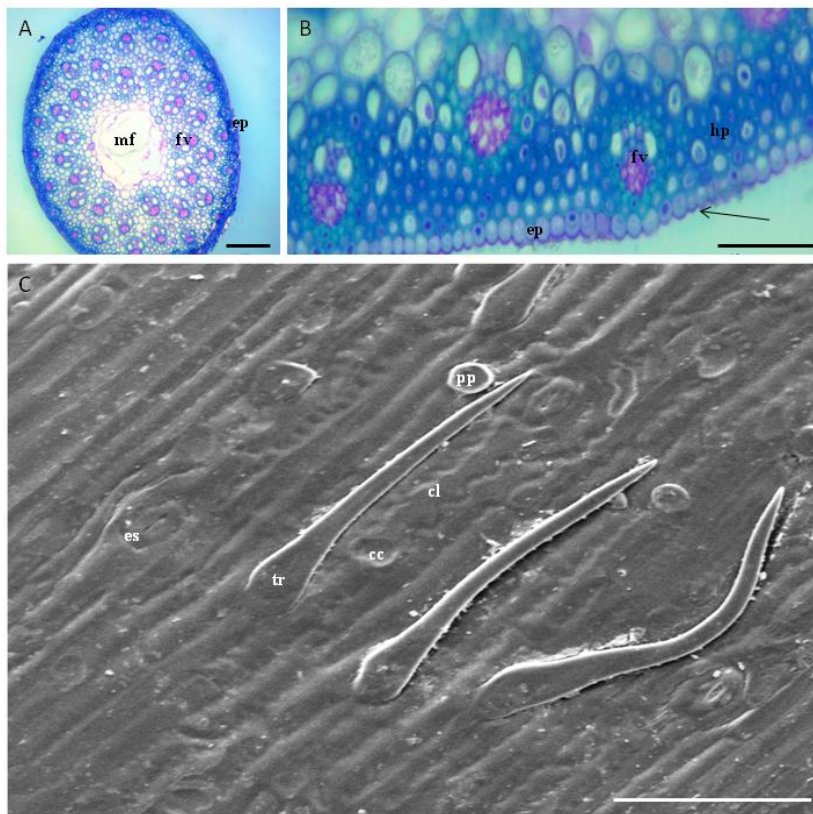


Figura 8: Secções do colmo de *Dendrocalamus asper*. **A-B:** Secções transversais em reação com azul de toluidina. **A:** panorama geral do entrenó **B:** detalhe da epiderme revestida externamente por cutícula (seta), e tecidos periféricos. **C:** Vista frontal da superfície epidérmica em microscopia eletrônica de varredura. Legenda: cc – célula curta silicosa; cl – célula longa com parede sinuosa; ep – epiderme; es – estômato; fv – feixe vascular; hp – hipoderme; mf – medula fistulosa; pp – papila; tr – tricoma aglandular pontiagudo. Barras: **A**- 150 μ m; **B** e **C**- 50 μ m.

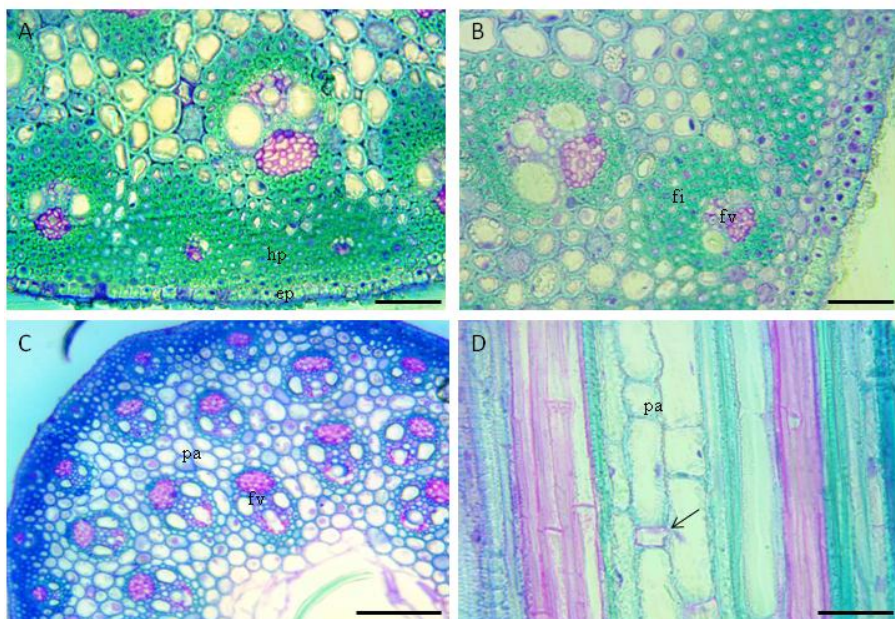


Figura 9: Secções transversais (A-C) e longitudinais (D) de entrenós do colmo de *Dendrocalamus asper*, coradas com azul de toluidina, em microscopia óptica. **A-B:** Regiões periféricas de entrenós distintos, **A**, entrenó sem bainha foliar e **B**, entrenó com bainha foliar. **C:** Cunha do colmo, da periferia até a medula. **D:** Dois tipos celulares compõem o parênquima nos entrenós. Seta indicando célula pequena que intercala as células longas. ep – epiderme; fi – fibras; fv – feixe vascular; hp – hipoderme; pa – parênquima. Barra de escalas: **A**, **B** e **D**- 50 μ m; **C**- 100 μ m.

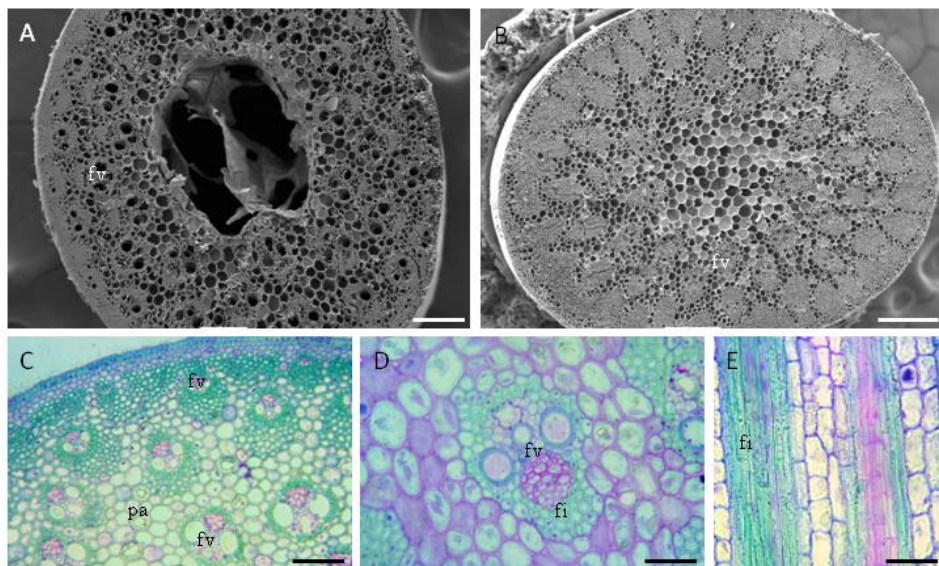


Figura 10: Secções do colmo de *Dendrocalamus asper*. **A-B:** Secções transversais do entrenó (A) e nó (B), em microscopia eletrônica de varredura. **C-D:** Secções analisadas em microscopia óptica coradas com azul de toluidina. **C-E:** Secções transversais (C,D) e longitudinal (E) analisadas em microscopia óptica coradas com azul de toluidina. **D-** Feixe vascular. **E:** Entrenó com fibras longas. Legenda: fi – fibras; fv – feixe vascular; pa parênquima. Barras: A e C- 100 µm; B- 200 µm; D e E- 50 µm.

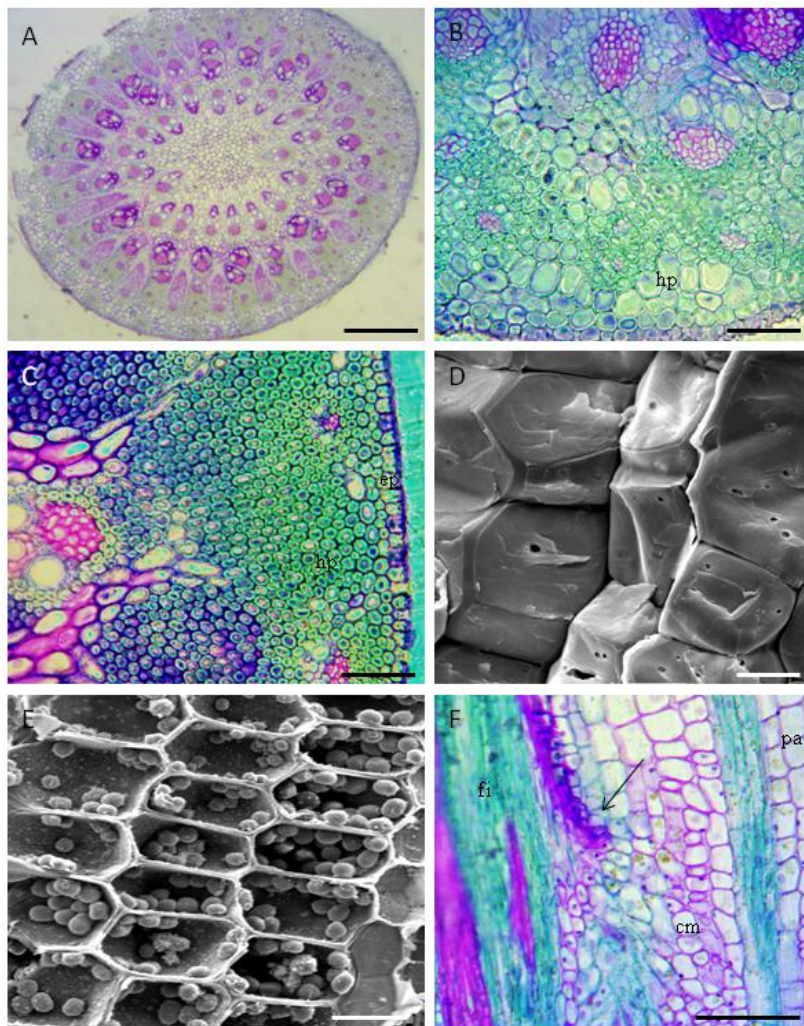


Figura 11: Secções de regiões de nós do colmo de *Dendrocalamus asper*, analisadas em microscopia eletrônica de varredura (**D,E**) e em microscopia óptica em reação com azul de toluidina (**A-C, F**). **A:** Panorama geral nó em secção transversal. **B-C:** Secções transversais de região periférica do nó. **D-E:** Células parenquimáticas em secção longitudinal, armazenando amido (**E**). **F:** Células meristemáticas no nó, em secção longitudinal. Seta indicando a região de inserção da bainha foliar. Legenda: cm – células meristemáticas; ep – epiderme; fi – fibras; hp – hipoderme; pa – parênquima. Barras: **A-** 250 μm ; **B e C-** 50 μm ; **D-** 10 μm ; **E-** 20 μm ; **F-** 100 μm .

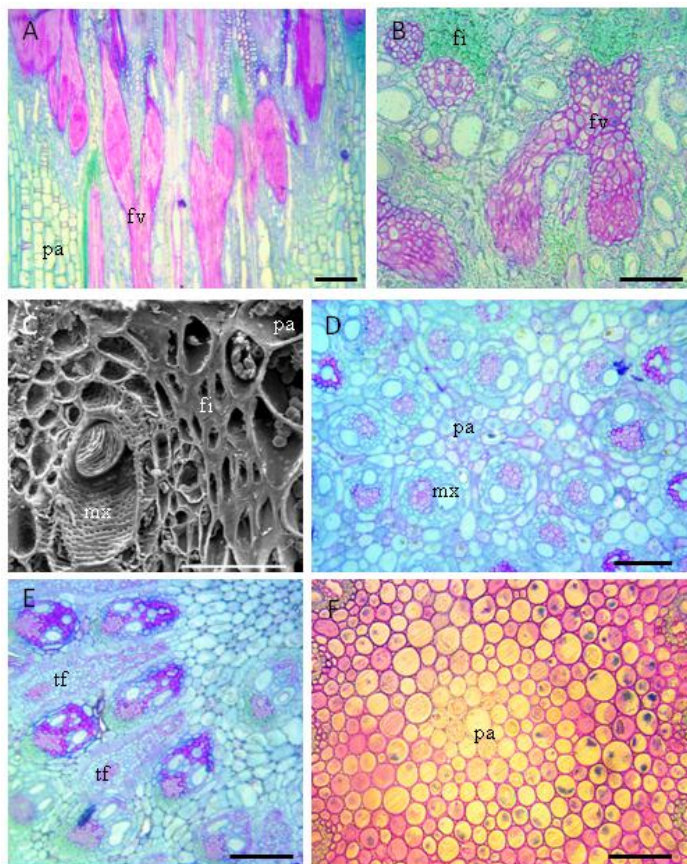


Figura 12: Secções das regiões de nó do colmo de *Dendrocalamus asper*, analisadas em microscopias óptica (**A-B**, **D-F**) e eletrônica de varredura (**C**). **A-B**: Ramificações dicotômicas dos feixes vasculares, em secções longitudinal (**A**) e transversal (**B**). **C**: Elemento de vaso de metaxilema, com espessamento pontado, acompanhado por fibras. Orientação transversal do vaso em uma secção longitudinal do colmo. **D**: Feixes vasculares pós-ramificação, localizados na medula, mantendo o sentido longitudinal caulinar com apenas um elemento de metaxilema. **E**: Traços foliares seccionados obliquamente, em uma secção transversal caulinar. **F**: Parênquima constituinte da medula, células grandes com espaços intercelulares esquizógenos conspícuos visto em secção transversal. Legenda: fi – fibras; fv – feixe vascular; mx – metaxilema; pa – parênquima; tf – traço foliar. Barras: **A**- 150 μ m; **B** e **C**- 50 μ m; **D**, **E** e **F**- 100 μ m

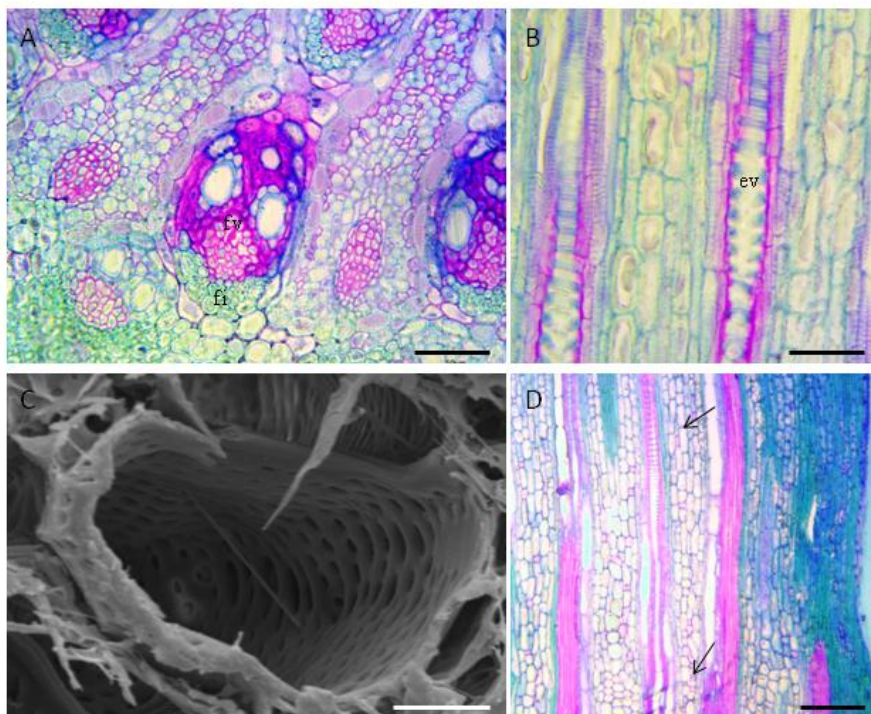


Figura 13: Secções do colmo de *Dendrocalamus asper*, analisadas em microscopia óptica, coradas com azul de toluidina (**A-B, D**), e microscopia eletrônica de varredura (**C**). **A:** Feixe vascular na região do nó, contendo fibras somente no floema, visto em secção transversal. **B:** Secção longitudinal com elementos de vaso com espessamento anelar. **C:** Detalhe de um elemento de vaso com espessamento pontado. **D:** Setas indicando células parênquimáticas menores na base, próximas ao nó, e alongadas em direção ao entrenó, vistas em secção longitudinal. Legenda: ev – elemento de vaso do xilema; fi – fibras; fv – feixe vascular. Barras: **A e B**- 50 µm; **C**- 10 µm; **D**- 150 µm.

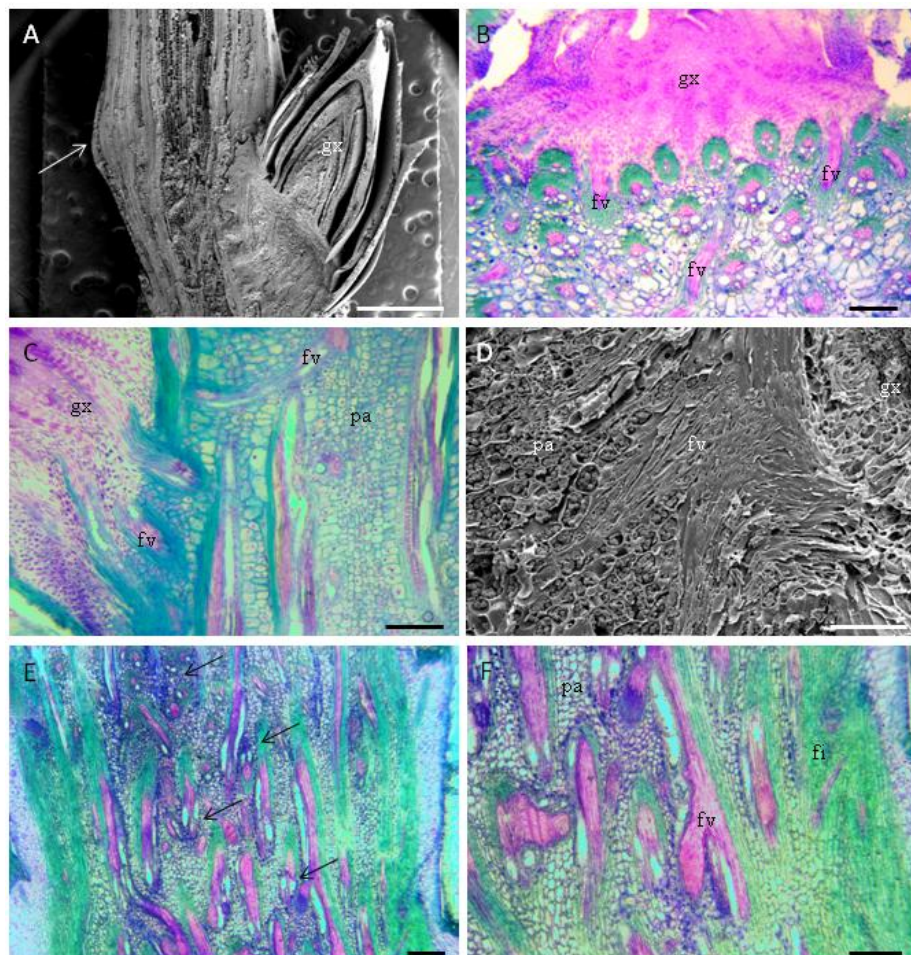


Figura 14: Secções longitudinais (A, C-F) e transversal (B) do nó do colmo de *Dendrocalamus asper*, analisadas em microscopia eletrônica de varredura (A, D) e em microscopia óptica corada com azul de toluidina (B-C, E-F). A: Gema axilar posicionada na região nodal. Seta indicando a crista supranodal. B-C: Direcionamento dos feixes vasculares em relação à gema axilar. D: Parênquima com grande quantidade de amido e feixes vascularizando o meristema axilar. E-F: Segmento nodal mais basal do ramo, permitia a conexão deste com o colmo principal da planta. Nós compactados, entrenós inexistentes e muitas anastomoses (setas). Legenda: gx – gema axilar; fi – fibras; fv – feixe vascular; pa – parênquima. Barras: A- 1 mm; B, C e F- 150 µm; D- 100 µm; E- 250 µm.